

reference²

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-033533

(43)Date of publication of application : 07.02.1997

(51)Int.Cl.

G01N 33/66

G01N 27/327

G01N 27/416

(21)Application number : 07-185559

(71)Applicant : KDK CORP

(22)Date of filing :

21.07.1995

(72)Inventor : YOSHIZU HIROSHI

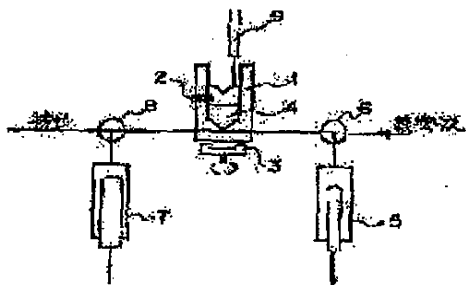
FUJII HIROMI

(54) METHOD FOR MEASURING CONCENTRATION OF GLUCOSE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To measure the concentration of glucose in blood with high accuracy under the state of whole blood by substituting the measurements of glucose concentration obtained from an unknown sample, respectively, by equilibrium point method and first order differential, and a previously calculated concentration function to a specific formula.

SOLUTION: A butter and a sample are fed, respectively, through a pump 5 and a sampler 6 to a glucose concentration measuring cell 1 and stirred 3, 4. The moment of time when the sample is fed is set at 0 and the relationship between the output from a hydrogen peroxide electrode 2 fixed with glucose oxidase and



the elapsed time is determined. Subsequently, the glucose concentrations EP, DI are determined, respectively, by equilibrium point method and first differential method. Measurements EP, DI obtained for various samples having known concentration are substituted in a formula of sample concentration $GL=EP+a \times (EP-DI)$ thus determining a glucose concentration function (a) previously. The function (a) and the measurements EP, DI obtained from an unknown sample are substituted in the formula thus determining the concentration GL. This method can measure the glucose concentration highly accurately under the state of whole blood regardless of elution from blood cell to buffer.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 12.03.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2003 Japan Patent Office

reference

(10) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-33533

(43) 公開日 平成9年(1997)2月7日

(51) Int.Cl. ⁸	願書記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/66			G 0 1 N 33/66	D
27/327			27/30	3 5 3 Z
27/416			27/46	3 3 8

審査請求 未請求 請求項の数5 O L (全8頁)

(21) 出願番号 特願平7-185559
(22) 出願日 平成7年(1995)7月21日

(71) 出願人 000141897
株式会社京都第一科学
京都府京都市南区東九条西明田町57番地
(72) 発明者 吉津 博
京都府京都市南区東九条西明田町57番地
株式会社京都第一科学内
(72) 発明者 藤井 弘巳
京都府京都市南区東九条西明田町57番地
株式会社京都第一科学内
(74) 代理人 弁護士 青山 操 (外2名)

(54) 【発明の名称】 グルコース濃度の測定方法

(57) 【要約】

【課題】 全血状態の試料のグルコース濃度の測定方法を提供する。

【解決手段】 グルコースセンサー法により全血試料のグルコース濃度 (G L) の測定は、(a) 試料の G L は、その試料についての平衡点法によるグルコース濃度測定値 (E P) および一次微分法によるグルコース濃度測定値 (D I) を用いて式 (1) : $G L = E P + a \times (E P - D I)$ [式中、a は係数であり、G L により変化する。即ち、G L の関数として表される係数である。] で表されると仮定し、(b) G L が既知の種々の全血試料について E P および D I を得、(c) 得られた E P および D I を式 (1) に代入することにより、a を G L の関数として予め求めておき、(d) グルコース濃度が未知の試料について、E P および D I を得、(e) 得られた E P および D I および工程 (c) において求めた a を用いて式 (1) に基づいて G L を求めることにより実施する。

(2)

特開平9-33533

【特許請求の範囲】

【請求項1】 グルコースセンサ法により、血球および液体成分を含んで成る試料中の液体成分中のグルコース濃度（GL）、即ち、試料のグルコース濃度を測定する方法であって、

（a）試料のグルコース濃度（GL）は、その試料についての平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を用いて

$$GL = EP + a \times (EP - DI) \quad (1)$$

【式中、aは係数であり、GLにより変化し得る。即ち、GLの関数として表される係数である。】で表されると仮定し、

（b）グルコース濃度（GL）が既知の種々の試料について平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を得、

（c）得られた測定値（EPおよびDI）を式（1）に代入することにより、aをグルコース濃度（GL）の関数として予め求めておき、

（d）グルコース濃度が未知の試料について、平衡点法によりグルコース濃度測定値（EP）を得、また、一次微分法によりグルコース濃度測定値（DI）を得、

（e）得られた測定値（EPおよびDI）および工程（c）において求めたaを式（1）に代入して未知数であるグルコース濃度（GL）を求めることを特徴とする方法。

【請求項2】 グルコースセンサ法により全血試料のグルコース濃度（GL）を測定する方法であって、

（a）試料のグルコース濃度（GL）は、その試料についての平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を用いて

$$GL = EP + a \times (EP - DI) \quad (1)$$

【式中、aは係数であり、GLにより変化し得る。即ち、GLの関数として表される係数である。】で表されると仮定し、

（b）グルコース濃度（GL）が既知の種々の全血試料について平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を得、

（c）得られた測定値（EPおよびDI）を式（1）に代入することにより、aをグルコース濃度（GL）の関数として予め求めておき、

（d）グルコース濃度が未知の試料について、平衡点法によりグルコース濃度測定値（EP）を得、また、一次微分法によりグルコース濃度測定値（DI）を得、

（e）得られた測定値（EPおよびDI）および工程

【請求項3】 式（1）に代えて、式（1）'：

$$GL = DI + a' \times (EP - DI) \quad (1)'$$

【式中、a' = $q / (q - p)$ であり、a' は真のグルコース濃度によって変化する係数である。】を使用する請求項2記載の方法。

【請求項4】 aまたはa' がGLによって変化せずに一定である請求項2または3記載の方法。

【請求項5】 請求項2～4のいずれかに記載のグルコース濃度測定方法を実施するための回路を含むグルコース濃度測定システム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、グルコース濃度の測定方法、特に、全血状態でグルコース濃度を測定する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】医療分野、医学的研究分野等において、血液（または血漿、場合により血清）中のグルコース濃度の測定が必要とされ、そのために種々の方法が提案され、また、実施されている。そのような方法の中で、広く採用されている方法の1つにバイオセンサーを用いる血液中のグルコース濃度の測定方法がある。良く知られているように、この測定方法は、一般的にグルコースセンサ法と呼ばれ、グルコース分解酵素であるグルコースオキシダーゼ（GOD）を用いて試料中のグルコースを分解し、その時に生成する分解生成物である過酸化水素量や消費される酸素量を電気化学的に測定し、測定結果から試料中のグルコース濃度を求めることを測定原理とするものである。

【0003】このようなグルコースセンサ法は、試料の複雑な前処理を必要とせずに高感度でグルコース濃度を測定できるので、特に糖尿病の診断や治療に幅広く使用され、具体的には、GODを固定化した膜と過酸化水素電極とを組み合わせた測定装置（グルコースセンサ）がこの方法にしばしば用いられている。例えば、この方法を用いるグルコース濃度測定装置として、株式会社京都第一科学から商品名GA-1140装置が市販されている。グルコースセンサ法によりグルコース濃度を測定する場合、血液を遠心分離して血球部分を分離した上澄み液（通常は血漿、場合により血清）を得て、これを適当な緩衝液により希釈してグルコースセンサ法を用いてグルコースの分解速度を測定する。

【0004】このようなグルコースセンサ法を用いるに際して、全血状態の血液を用いずに、遠心分離した血液から上澄み液（血漿または血清）をサンプリングするのは、血球は相当量の固形分（通常、約25～45%）を含むため、サンプリングした試料に血球が含まれていると、緩衝液による試料の希釈倍率が真の倍率（緩衝液：試料中の液体成分）と異なるため、測定値は真の値と異なる。

(3)

特開平9-33533

含まれている割合が判らないからである。従って、全血状態でのグルコース濃度の測定は困難であった。

【0005】このような背景のもと、全血状態のままグルコース濃度を測定する方法として、平衡点法、一次微分法および二次微分法のような高次微分法から選択される2種類の方法を用いて血球体積割合を求め、それに基づいて真の希釈倍率を求めて測定値（生データ）を補正することによりグルコース濃度を求める方法が特公平7-37991号公報に記載されている。

【0006】この公報に記載の平衡点法および一次微分法は、次のような事項に基づくものである：全血は主に血清（または血漿）および血球から成り、血球はその内部に液体成分を含み、この液体成分は血清中のグルコース濃度に等しい濃度でグルコースを含んでいる。通常、上述のような特公平7-37991号公報に記載の方法では、全血試料をGOD-過酸化水素還元反応系で測定する場合、試料は等張の緩衝液により80～100倍程度に希釈される。この場合、血球内の液体中のグルコースは10秒程度で緩衝液中に移動（溶出）して平衡状態となる。

【0007】平衡点法では、このような平衡状態に到達した後のグルコース濃度を測定することになるので、血球内の液体および血清に含まれているグルコース濃度が測定される。しかしながら、平衡点法と言えども、全血試料についての測定であるので、血球膜のような図形分が含まれており、従って、上述のように真の希釈倍率が判らない。また、真の希釈倍率は見掛けの希釈倍率より大きいので、平衡点法により測定されるグルコース濃度は真のグルコース濃度より小さい測定値として得られる。

【0008】また、一次微分法により全血試料のグルコース濃度を測定する場合、出力の時間的変化量（出力の速度速度の概念）は試料注入後2秒程度で極大（最大）値に達する。一次微分法による測定も平衡点法と変わるところはなく、真の希釈倍率は判らない。この場合においても、試料が希釈された時に、血球内のグルコースは血球から緩衝液中に溶出しようとする。しかしながら、平衡点法と比較すると、極大値までの時間が相当短く、血球膜という抵抗も存在するので、一次微分法により測定されるグルコース濃度は血清内のグルコースのみに起因する濃度であると近似できる場合が多く、特公平7-37991号公報に記載の方法ではこの近似を平衡点法と組み合わせて利用している。

【0009】しかしながら、種々の検討を重ねていくと、一次微分法の極大値を得る例えば2秒程度の時間内であっても、血球内の液体中のグルコースが溶出しようとするのは確かであり、しかも、血球の割合が大きい場合には各血球からの溶出量がわずかであっても溶出する総量としては血球から緩衝液内へのグルコースの溶出を無視し得ない場合があることが判った。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】従って、血球から緩衝液への溶出がある場合であってもその影響を受けず、全血状態のまま血液のグルコース濃度を測定する方法が提供されれば、より向上した精度でグルコース濃度の測定が可能となり、また、従来の測定方法では必要とされていた遠心分離工程を省略することができる。即ち、全血状態でのグルコース濃度の測定を可能にすることができる。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明の第一の要旨において、グルコースセンサー法により、血球および液体成分を含んで成る試料中の液体成分中のグルコース濃度（GL）、即ち、試料のグルコース濃度を測定する方法であって、（a）試料のグルコース濃度（GL）は、その試料についての平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を用いて

$$GL = EP + a \times (EP - DI) \quad (1)$$

【式中、aは係数であり、GLにより変化し得る。即ち、GLの関数として表される係数である。】で表されると仮定し、（b）グルコース濃度（GL）が既知の種々の試料について平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を得、（c）得られた測定値（EPおよびDI）を式（1）に代入することにより、aをグルコース濃度（GL）の関数として予め求めておき、（d）グルコース濃度が未知の試料について、平衡点法によりグルコース濃度測定値（EP）を得、また、一次微分法によりグルコース濃度測定値（DI）を得、（e）得られた測定値（EPおよびDI）および工程（c）において求めたaを式（1）に代入して未知数であるグルコース濃度（GL）を求めることを特徴とする方法を提供する。

【0012】本発明において、血球とは赤血球、白血球および血小板から選択される少なくとも一種を意味し、実際的には主として赤血球から成るものを意味する。液体成分とは血球の外部に存在する液体、例えば血漿、血清などを意味する。従って、血球および液体成分を含んで成る試料とは、例えば通常の生体（生物、特にヒト）から採取した全血としての血液を意味するが、これに限定されるものではなく、予め分離されている血液の種々の液体成分および血球成分を混合したものであってもよい。

【0013】本発明において、グルコースセンサー法とは、酵素としてグルコース分解酵素である例えばグルコースオキシダーゼ（通常は適当な支持体に固定化されたもの）を用いて液体部分に溶解しているグルコースを分解し、その時に分解生成する過酸化水素量および／または消費される酸素量を過酸化水素電極および／または酸素電極により電気化学的に測定し、その測定結果から液

(4)

特開平9-33533

体中のグルコース濃度を求めることを測定原理とする、従来の技術の説明において説明したようないわゆるバイオセンサーを用いるグルコース濃度を測定する方法を意味する。通常のグルコース濃度の測定においては、グルコース濃度を測定すべき試料を直接測定するのではなく、試料を適当な液体、特に緩衝液により希釈したものについてグルコース濃度を測定する。このようなグルコースセンサー法は当該分野においては周知のものであり、本発明ではグルコースオキシダーゼと過酸化水素電極の組み合わせを用いるのが特に好ましい。

【0014】以下、グルコースオキシダーゼと過酸化水素電極を用いる場合を例として本発明を説明するが、他の電極を用いる場合も本発明を同様に適用できる。具体的には、図1に模式的に示すような装置を用いてグルコース濃度を測定する。グルコース濃度測定セル1はGODを固定化した過酸化水素電極2を有し、セル内の液は、スターラ3および攪拌子4により充分に攪拌されるようになっている。ポンプ5により緩衝液がバルブ6を介してセル1内に供給され、グルコース濃度を測定すべき試料はサンプラー9によりセル1内に供給され、測定が終了すると、ポンプ7によりバルブ8を介して測定液は排出される。測定は、サンプラー9から試料を供給した時間を0として、過酸化水素電極2からの出力と経過時間との関係を求めることにより行う。

【0015】本発明において、平衡点法とは、上述のグルコースセンサー法を用いるグルコース濃度測定法の1つであって、グルコース濃度が既知の標準溶液について測定開始後（即ち、試料をセル内に注入した後）の過酸化水素電極の出力（電流値）が実質的に一定となるまで測定を継続し、その一定出力とグルコース濃度との関係を検量線として予め求めておき、その後、グルコース濃度が未知の試料について過酸化水素電極の出力を測定し、同様に出力が実質的に一定値となるまで測定を継続し、その一定値から検量線に基づいてグルコース濃度を求める方法を意味する。

【0016】この平衡点法は、次のような事項に基づくものである：グルコースオキシダーゼによるグルコースの分解反応速度は、緩衝液中のグルコース濃度に比例するが、酵素によるグルコースの分解量自体は微量であるのでグルコース濃度は殆ど変化しない。従って、定常状態では過酸化水素の生成速度は一定となる。

【0017】具体的には、あるグルコース濃度の試料について、測定を実施すると、図2に模式的に示すような（ある時間経過した後は一定となる）電極の出力と試料注入後の時間との関係が得られ、出力は通常10秒程度でほぼ一定となる（図2では、理解のため、E/Pの符号を付している）。この一定の出力値と緩衝液中のグルコース濃度との間には一定の相関関係があり、平衡点法

力が一定値に到達するまでに十分な時間があり、測定すべき液体試料中に血球が混入している場合、この時間は、血球内の液体に含まれるグルコースが血球の細胞膜という抵抗に抗して緩衝液本体中に拡散していくのに十分なものであることが判っている。従って、平衡点法により測定される測定グルコース濃度（E/P）をもたらしグルコースは、液体成分中に溶解しているグルコースおよび血球内の液体中に溶解しているグルコースの双方である。

【0019】本発明において、一次微分法とは、上述のグルコースセンサー法を用いるグルコース濃度測定法の1つであって、グルコース濃度が既知の標準溶液について測定開始後の過酸化水素電極の出力（電流値）と測定時間との関係を測定し、それに基づいて出力の時間的変化量（即ち、出力の時間による微分値。従って、出力の速度）の最大値とグルコース濃度との関係を検量線として予め求めておき、その後、グルコース濃度が未知の試料について過酸化水素電極の出力の時間的変化を測定し、同様に時間的変化量の最大値を測定し、その最大値から検量線に基づいてグルコース濃度を求める方法を意味する。

【0020】例えば、図2に模式的に示すような電極の出力と時間との関係を時間について微分すれば出力の時間的変化量が求められ、具体的には図2に示すような（極大値を持つ）曲線が得られる（図2では、理解のためD/Iの符号を付している）。この曲線の最大値と緩衝液中のグルコース濃度との間には一定の相関関係があり、一次微分法はこの関係を検量線として利用するものである。このような一次微分法では、測定開始後、出力の時間的変化量が最大値に到達するまでにわずかな秒数程度（例えば2秒程度）の時間しかないことが判っている。

【0021】尚、本発明の方法において、式（1）を仮定するというのは、後の説明から理解できるように、グルコース濃度（G/L）と測定値（E/PおよびD/I）との間には式（1）で示される関数が成り立つと考えてもよいので、この関係式を本発明において使用するということを意味する。

【0022】本発明の方法において、 a をグルコース濃度（G/L）の関数として予め求めておくとは、血球および液体成分を含む種々の試料についての測定値（E/PおよびD/I）とその試料の既知のグルコース濃度からの a の値を算出し、この a の値とグルコース濃度（G/L）との相関関係を予め求めておくことを意味する。この関数が判っていれば、グルコース濃度が未知の試料についてE/PとD/Iを測定し、これらを式（1）に代入すれば未知数がG/Lだけの等式（1）となるので、方程式を解くようにしてG/Lを求めることができる。本発明の方法において、血球が含まれる液体試料として、全血や部分的血液

(5)

特開平9-33533

従って、本発明は全血状態の試料中のグルコース濃度の測定に特に有用である。

【0023】従って、第2の要旨において、本発明は、グルコースセンサー法により全血試料のグルコース濃度（GL）を測定する方法であって、（a）試料のグルコース濃度（GL）は、その試料についての平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を用いて

$$GL = EP + a \times (EP - DI) \quad (1)$$

【式中、aは係数であり、GLにより変化する。即ち、GLの関数として表される係数である。】で表されると仮定し、（b）グルコース濃度（GL）が既知の種々の全血試料について平衡点法によるグルコース濃度測定値（EP）および一次微分法によるグルコース濃度測定値（DI）を得、（c）得られた測定値（EPおよびDI）を式（1）に代入することにより、aをグルコース濃度（GL）の関数として予め求めておき、（d）グルコース濃度が未知の試料について、平衡点法によりグルコース濃度測定値（EP）を得、また、一次微分法によりグルコース濃度測定値（DI）を得、（e）得られた測定値（EPおよびDI）および工程（c）において求めたaを用いて式（1）に基づいてグルコース濃度（GL）を求めることを特徴とする方法を提供する。

【0024】1つの態様において、本発明の方法において、aはグルコース濃度に関係ない一定値として本発明の方法を適用してもよい場合がある。この一定値は、工程（c）に基づいた測定結果からaのグルコース濃度依存性が小さく、aが一定値であるとみなしてよい場合である。この場合は、EPおよびDIを式（1）に代入すると、直ちにGLを求めることができる。本発明のグルコース濃度測定方法により血液中の血球量に関係なく、血液中のグルコース濃度の測定が可能となる。従って、従来のように、血液中のグルコース濃度の測定に際して遠心分離操作をする必要が解消される。

【0025】

【発明の実施の形態】本発明は、以下の考察に基づいて為されたものである：全血中の固形分は、血球の割合に比例して増加する。通常、全血中の血球の内、赤血球が大半を占めるので、血球および液体成分から成る試料中の血球の体積割合（Ht）は、赤血球の体積割合にほぼ等しい。また、赤血球中の固形分の割合はほぼ一定であると考えてもよいので、固形分は、試料中の血球の割合（Ht）、従って、赤血球の割合に比例して増加すると考えることができる。尚、試料が均一な混合物である場合、この血球の割合はいわゆるヘマトクリットに相当すると考えても問題はない。

【0026】血漿（または血清）の場合のように、試料に血球が含まれない場合、平衡点法による測定の対象となるグルコースは、血漿中のグルコース全量であり、この場合、平衡点法の測定結果は真の（血漿または血清中

の）グルコース濃度と考えることができる。他方、全血試料のように、試料に血球が含まれている場合、平衡点法による測定の対象となるグルコースは、試料中の液体（即ち、血漿または血清部分および血球内の液体）中に存在するグルコース全量である。即ち、血球の固形分は測定対象となるグルコースを含まないにも拘わらずある体積を占める物質として存在するので緩衝液による見かけの希釈倍率を小さくするという効果を有する。

【0027】従って、全血試料の場合のグルコース濃度の測定に寄与するグルコース量は、試料が血球を含まないとは仮定したグルコース量からグルコース濃度測定に寄与しない、Htに比例する量を差し引いた量であると考えられる。（即ち、Htが大きくなると、Htに比例的に固形分が増えるので、測定対象となるグルコースはHtがゼロの状態からHtに比例して減少する。）測定により得られるグルコース濃度は、測定の対象となるグルコース量と一次の関係にあるので、全血試料の場合に平衡点法により測定されるグルコース濃度をEPとすると、

$$EP = GL - p \times Ht \quad (2)$$

【式中、GLは真のグルコース濃度であって、試料が血球を含まないとした場合の試料のグルコース濃度、即ち、血漿（または血清）中のグルコース濃度であり、pはグルコース濃度によって変化する係数であり、Htは試料中の血球の体積%である。】と表現できる。

【0028】一次微分法において、血球から溶出して測定の対象となり得るグルコース量は、血球の割合、従ってHtに比例して増加すると考えられる。従って、一次微分法において測定の対象となるグルコース量は、試料が血球を含まないとは仮定したグルコース量から、グルコース濃度測定に寄与しない、溶出せず血球内の液体中に残っているグルコース量を差し引いた量であると考えられる。この残存するグルコース量はHtに比例する量である。従って、平衡点法の場合と同様の考えに基づくと、全血試料の場合に一次微分法により測定されるグルコース濃度をDIとすると、

$$DI = GL - q \times Ht \quad (3)$$

【式中、qはグルコース濃度によって変化する係数であり、他は式（2）と同様である。】と表現できる。

【0029】そこで、式（2）および式（3）の妥当性を検討するために、種々のHt（体積%）の全血試料を準備し、これらの試料についてグルコース濃度を平衡点法および一次微分法により測定した。この場合、真のグルコース濃度（即ち、血清グルコース濃度）は80mg/dlであった。その結果を、図3に示す。図3から明らかのように、いずれの測定方法においても、右下がりの直線関係が得られるが、これは、式（2）および式（3）のように考えることの妥当性を示すものである。尚、図3において「血球／（血球＋血漿）」×100＝Ht（体積%）である。

【0030】次に、EP値とDI値との差（EP-DI

(6)

特開平9-33533

1) を考える:

$$(EP-DI) = (2) - (3)$$

$$= (a-p) \times Ht \quad (4)$$

式(4)から明らかなように、差 $(EP-DI)$ は、 Ht に比例する。図3に用いたデータから $(EP-DI)$ と Ht との関係を求め、これを、図4に示す。図4から

$$GL = EP + [p / (a-p)] \times (EP-DI) \quad (5)$$

$$= EP + a \times (EP-DI) \quad (6)$$

【式中、 $a = p / (a-p)$ であり、 a は真のグルコース濃度によって変化する係数である。】となる。尚、式(4)を(式(2)の代わりに)式(3)に代入してもよい。この場合、

$$GL = DI + a' \times (EP-DI) \quad (1)'$$

【式中、 $a' = a / (a-p)$ であり、 a' は真のグルコース濃度によって変化する係数である。】となるが、式(1)も式(1)'も基本的には同様な考え方で以下の考察を進めることができることは数学的に容易に理解できる。従って、本明細書では、簡単のため、式(2)に代入する場合を例にして以下説明する。

【0032】式(6)から明らかなように、真のグルコース濃度は、 Ht に関係なく、係数 a 、測定値 EP および測定値 DI により決定できる。即ち、血球割合 Ht により生じ得る誤差を排除した形で真のグルコース濃度を決定できる。最後に、係数 a を求める。この係数 a は、グルコース濃度が既知である種々の全血試料を用いて EP 値および DI 値を求め、式(6)にこれらの値を代入して a を求める。

【0033】その一例を血清中のグルコース濃度と a との関係にて図5に示す。この場合では、結果的に a は実質的にグルコース濃度の影響を受けていない($a \approx 1$ 、 $4 = \text{一定}$: 即ち、グルコース濃度により影響を受けない)と考えても実質的には問題は無いと考えられる。尚、図3~5に示したデータは、株式会社京都第一科学から市販されているグルコース濃度測定装置GA-1160(グルコースオキシダーゼ-過酸化水流電極系)を一部改造して DI も測定できるようにした装置を用いて得た場合の実測値である。

【0034】従って、 a が求められていれば、グルコース濃度が未知の全血試料の真のグルコース濃度は、その試料について測定して測定値 EP および DI を得て式(6)に測定値 EP および DI を代入するだけで(a が一定の場合は)簡単に算出することができる。 $a = 1$ 、 4 とした場合の妥当性を検討するために、予め別に血清のみについて測定しておいた、血清濃度が既知の種々の全血試料について EP 値および DI 値を用いて $a = 1$ 、 4 としてグルコース濃度を算出した。その結果を図6に示している。図6において横軸は真のグルコース濃度であり(血清のみについて測定したグルコース濃度)、縦

明らかなように、実際のデータについて、 $(EP-DI)$ と Ht は直線で近似できるとすることが妥当であり、従って、式(4)が妥当であることが判る。

【0031】そこで、式(4)を式(2)に代入することにより Ht を消去すると、グルコース濃度の測定において Ht の影響を無くすることができる。即ち、

$$(5)$$

$$(6)$$

【0035】図6から明らかなように、傾きがほぼ1の直線上に大部分のデータが載っている(図6においては、 r は相関係数であり、 n は測定データ数である)。この結果から、本発明の全血試料についてのグルコース濃度の測定方法には、十分な精度があることが判る。

尚、更にデータを増やしたり、あるいは測定装置を変更したりすると、 a の値が変わることも十分に予想され、真のグルコース濃度により変化する(即ち、 a はグルコース濃度の関数である)とした方がより良い場合があるとも考えられる。そのような場合には、式(6)は、 $a = F_n(GL)$ とすると、

$$GL = EP + F_n(GL) \times (EP-DI) \quad (7)$$

【式中、 F_n は GL の何らかの関数を意味する。】となる。 F_n は上述のように a を求める場合と同様にして種々の実験データから例えば図6のようなグラフを描き、 a とグルコース濃度(GL)との間に相関関数があると判断される場合には、 $a = F_n(GL)$ を予め求めておけばよい。この関数の導出については、種々の回帰式を数学的にまたはコンピューター等により求める手法(例えば最小二乗法等)が知られており、例えば一次関数、対数関数および指数関数等を用いて、 a をグルコース濃度(GL)の関数として求めることができる。

【0036】実際の測定に際しては、 EP 値および DI 値が得られ、 F_n が既に求められているので、式(7)において未知数は真のグルコース濃度だけとなる。従って、式(7)に測定値および関数を代入して、代数的に、または関数が複雑な場合は数値解法的に例えばコンピューターにより真のグルコース濃度を求めることができる。

【0037】そこで、第3の要旨において、本発明は、上述のようなグルコース濃度測定方法を実施するために、その方法をソフト化した回路を含むグルコース濃度測定システムを提供し、このシステムは、既存のグルコース濃度測定装置に、上述のような本発明のグルコース濃度測定方法を実施する回路を組み込むことにより、全血試料のグルコース濃度の測定を可能にするものである。本発明の測定方法は、上述の開示に基づいて容易にソフト化でき、実際には電極からの出力の処理(即ち、平衡点法および一次微分法の測定値の算出)と組み合わせてコンピューターで全血試料のグルコース濃度を計算

(7)

特開平9-33533

【図1】 グルコース濃度測定装置を模式的に示す図である。

【図2】 過酸化水素電極の出力の時間的変化および過酸化水素電極の出力の時間的変化の時間微分を示す模式的グラフであって、平衡点法および一次微分法によるグルコース濃度の測定原理を示す。

【図3】 式(2)および式(3)の妥当性を確認するグラフである。

【図4】 実際のデータについて式(4)が妥当である

ことを確認するためのグラフである。

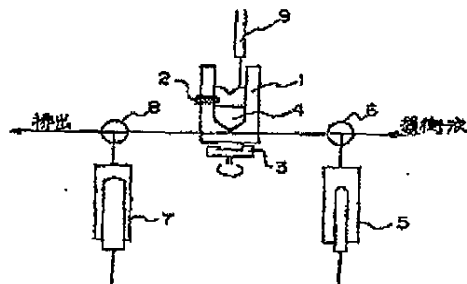
【図5】 係数 a とグルコース濃度 (GL) との関係を示す実験データのグラフである。

【図6】 本発明の方法によるグルコース濃度の算出値と血清グルコース濃度との比較を示すグラフである。

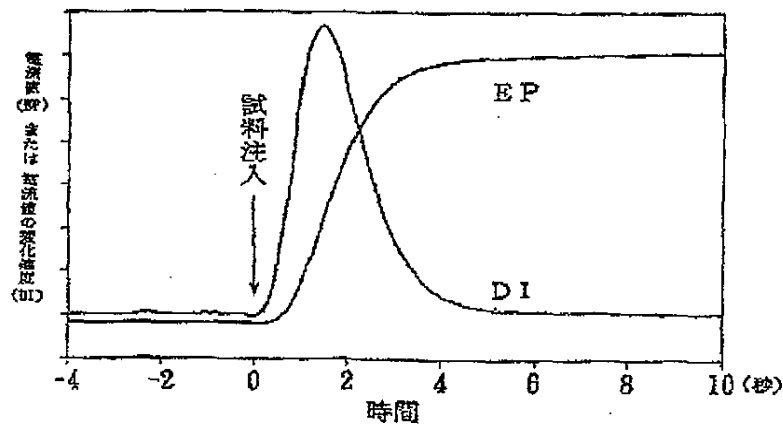
【符号の説明】

1…グルコース濃度測定セル、2…GOD固定化過酸化水素電極、3…スターラ、4…攪拌子、5…ポンプ、6…バルブ、7…ポンプ、8…バルブ、9…サンプラー。

【図1】



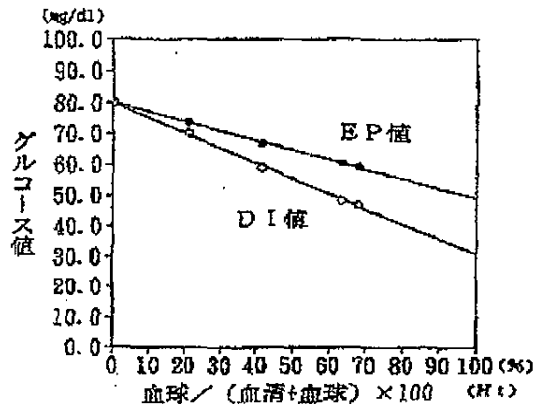
【図2】



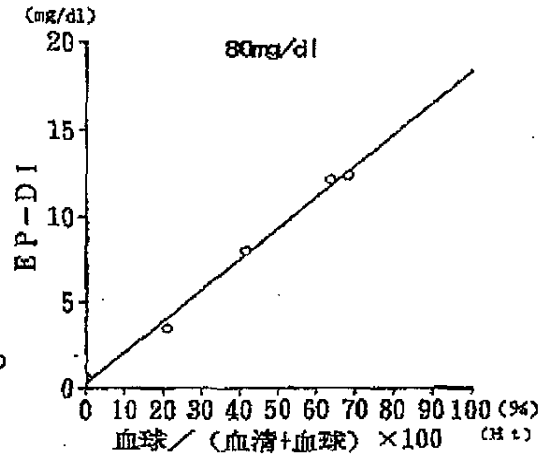
(8)

特開平9-33533

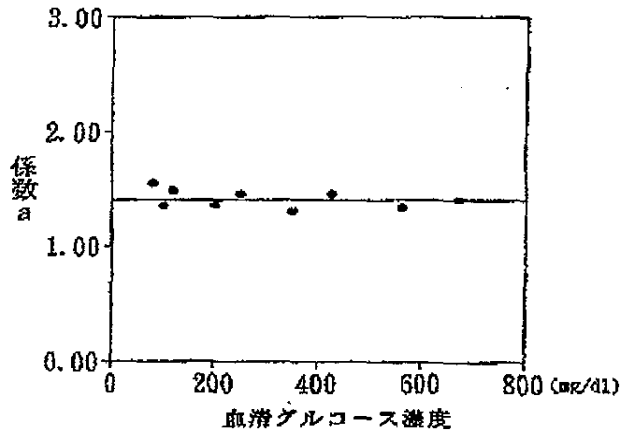
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

